

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Magdalena Rajković

Diplomski studij Ekološka poljoprivreda

USPOREDBA TROSTUPANJSKE I JEDNOSTRUKKE EKSTRAKCIJE
ESENCIJALNIH TEŠKIH METALA U POLJOPRIVREDNIM TLIMA

Diplomski rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Magdalena Rajković

Diplomski studij Ekološka poljoprivreda

USPOREDBA TROSTUPANJSKE I JEDNOSTRUKKE EKSTRAKCIJE
ESENCIJALNIH TEŠKIH METALA U POLJOPRIVREDNIM TLIMA

Diplomski rad

Osijek, 2016.

SVEUČILIŠTE JOSIPA JURJA STROSSMAYERA U OSIJEKU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET U OSIJEKU

Magdalena Rajković

Diplomski studij Ekološka poljoprivreda

USPOREDBA TROSTUPANJSKE I JEDNOSTRUKKE EKSTRAKCIJE
ESENCIJALNIH TEŠKIH METALA U POLJOPRIVREDNIM TLIMA

Diplomski rad

Povjerenstvo za ocjenu i obranu diplomskog rada:

1. doc. dr. sc. Vladimir Ivezić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, mentor
3. doc. dr. sc. Brigita Popović, član

Osijek, 2016.

Sadržaj

1. Uvod	1
1.1. Cilj istraživanja.....	3
2. Pregled literature	4
3. Materijal i metode	7
3.1. Analize tla.....	7
3.1.1. pH tla.....	7
3.1.2. Sadržaj humusa	7
3.1.3. Hidrolitička kiselost	8
3.1.4. Analiza AL- pristupačnog fosfora i kalija	8
3.1.5. Utvrđivanje sadržaja karbonata (CaCO_3)	8
3.1.6. Metoda trostupanske ekstrakcije teških metala.....	8
3.1.7. Jednostruka ekstrakcija pomoću zlatotopke.....	10
3.1.8. Određivanje mikroelemenata ekstrahiranih s EDTA	10
3.2. Statistička obrada podataka	11
4. Rezultati	12
4.1. Osnovna agrokemijska svojstva analiziranih tala.....	12
4.2. pH reakcija tla.....	13
4.3. Sadržaj humusa.....	13
4.4. Koncentracije mikroelemenata ekstrahirane s EDTA	14
4.5. Trostupanska ekstrakcija esencijalnih teških metala u tlu.....	15
4.5.1. Prva frakcija esencijalnih teških metala u tlu	16
4.5.2. Druga frakcija esencijalnih teških metala u tlu	17
4.5.3. Treća frakcija esencijalnih teških metala.....	18
4.5.4. Četvrta frakcija esencijalnih teških metala	19
4.6. Usporedba jednostruke i trostupanske ekstrakcije esencijalnih teških metala	20
4.6.1. Jednostruka ekstrakcija željeza zlatotopkom	20
4.6.2. Jednostruka ekstrakcija mangana zlatotopkom	21
4.6.3. Jednostruka ekstrakcija cinka zlatotopkom.....	22
4.6.4. Jednostruka ekstrakcija bakra zlatotopkom	23
4.6.5. Jednostruka ekstrakcija nikla zlatotopkom	24
5. Rasprava	25

6. Zaključak.....	31
7. Literatura.....	32
8. Sažetak	35
9. Summaray.....	36
10. Popis tablica	37
11. Popis grafikona.....	38

1. Uvod

Mikroelementi imaju vrlo važne i složene funkcije u ishrani bilja. Prilikom nedostatka predstavljaju ograničavajući čimbenik koji se očituje u smanjenju visine prinosa odnosno same kakvoće prinosa. Živa tvar sadrži manje količine mikroelemenata u odnosu na makroelemente. Biljke prosječno trebaju < 1 kg/ha mikroelemenata. U tlu se nalaze u različitim frakcijama od kojih su samo neke raspoložive biljci (*Lončarić i Karalić, 2015.*). Mangan, bakar, cink, molibden i nikal su teški metali koji pripadaju skupini esencijalnih mikroelemenata, a željezo se svrstava u skupinu makroelemenata. Uz preveliku koncentraciju, esencijalni mikroelementi iz skupine teških metala mogu imati vrlo toksičan učinak u okolišu te također na biljke i životinje. No ti su elementi neophodni za biljku te je važno da budu biljci dostatno raspoloživi. Kako u litosferi tako i u tlu, mikrohraniva se nalaze u malim koncentracijama, odnosno možemo ih svrstati i u skupini elemenata u tragovima, osim mangana koji je izuzetak (*Lončarić i Ivezić, 2015.*). Zbog viška ili manjka mikroelemenata, česti su poremećaji ljudskog organizma jer mikroelementi sudjeluju u građi velikog broja različitih spojeva, npr. pri nedostatku željeza može doći do slabije pokretljivosti, migrena, dekoncentracije, slabe prokrvljenosti kože itd. (*Vukadinović i Lončarić, 1998.*).

Prema *Tandonu (1984.)* željezo (Fe) se smatra najvažnijim esencijalnim metalom te ima vrlo raznoliku ulogu u biokompleksima. Željezo u tlu potječe iz primarnih i sekundarnih minerala. U procesima raspadanja primarnih i sekundarnih minerala dolazi do oslobađanja željeza. Željezo u kiselim tlima iznova gradi sekundarne minerale. Dovoljno mobilnog željeza sadrži većina poljoprivrednih tala. Željezo biljke usvajaju u obliku iona Fe^{2+} i Fe^{3+} ili u obliku kelata. Najveća koncentracija željeza kod biljaka je u lišću, ali i korijen sadrži velike količine. Kod usvajanja željeza kompeticiju pokazuju nikal, bakar, kobalt, krom, cink te mangan, dok kod viših pH vrijednosti smetaju fosfati i Ca^{2+} . Prilikom ishrane, amonijačna ishrana povećava usvajanje željeza dok nitratna ishrana smanjuje usvajanje željeza. Kritična granica nedostatka željeza je $50 - 150 \text{ mg kg}^{-1}$ u suhoj tvari, dok se suvišak rijetko događa, osim u slabo prozračnim tlima, vrlo kiselim, gdje je moguće toksično djelovanje suviška željeza (*Vukadinović i Vukadinović, 2011.*). Dnevne potrebe odraslog čovjeka za željezom su $10 - 15 \text{ mg}$ (*Vukadinović i Lončarić, 1998.*).

Cink (Zn) kao i željezo u tlu ima podrijetlo iz primarnih i sekundarnih minerala. Prosječan sadržaj iznosi 5-20 mg/kg cinka u tlu. Manje cinka sadrže kisele stijene (gnajs i granit) dok znatno više sadrže alkalne stijene, odnosno bazalt. Biljke usvajaju cink kao kation Zn^{2+} , $ZnCl^+$, $(Zn, (NH_3)_4)^{2+}$, $Zn(OH)^+$ i Zn kelate, a u biljkama je uvijek Zn^{2+} . Suvišak fosfora kao i niska temperatura snižavaju usvajanje cinka. U kiselim tlima veća je pristupačnost cinka te postoji i veća opasnost od njegovog ispiranja. Na glinovitim, teškim te karbonatnim tlima istočne Hrvatske najčešće se javlja nedostatak cinka. Izuzetno niska koncentracija je u vodenoj fazi, te je sadržaj cinka u biljkama često nizak. Na nedostatak cinka vrlo su osjetljive biljke lan, soja te kukuruz, dok su strne žitarice otpornije. Suvišak cinka rijetko se javlja i to samo na kiselim tlima i rudištima.

Bakar (Cu) je u tlu porijeklom iz primarnih minerala te njihovim raspadanjem oksidira do Cu^{2+} te ga biljke usvajaju kao takvoga ili u vidu kelata. U tlu se nalazi prosječno 5-55 mg/kg bakra. Pristupačnost bakra se povećava s kiselošću te na njegovu raspoloživost značajno utječe pH reakcija tla. Nedostatak bakra izaziva dobra opskrbljenost biljaka fosforom i dušikom dok prilikom usvajanja konkurenciju mu čine željezo, cink i mangan. Pojava suviška bakra je vrlo rijetka pojava, te se javlja na kiselim tlima. Vidljivi znaci toksičnosti bakrom očituju se smanjenjem rasta korijena i izdanaka te klorozom starijeg lišća i crvenkastomrkom rubnom nekrozom (*Vukadinović i Lončarić, 1998.*). Nikal (Ni) je vrlo značajan mikroelement za usvajanje željeza. Prilikom slabe opskrbe niklom, biljke kasnije prelaze u reproduktivnu fazu. Nikal se u biljkama nalazi kao Ni^{2+} . U biljkama je vrlo niska koncentracija nikla, te na onečišćenim tlima gdje matični supstrat sadrži puno nikla ili prilikom korištenja gradskog otpada kao organskog gnojiva, vrlo lako može dostići toksične granice, tj. 10-50 mg/kg u suhoj tvari biljke (*Vukadinović i Lončarić, 1998.*).

Mangan (Mn) se u biljkama nalazi kao kation Mn^{2+} i Mn^{3+} dok se u tlu nalazi i kao Mn^{4+} i Mn^{6+} . Biljke lako usvajaju Mn^{2+} te mangan u obliku kelata. Raspoloživost i koncentracija ukupnog mangana u tlu su nešto niže u odnosu na koncentracije željeza (*Karalić i sur., 2015.*). Povećanjem kiselosti tla raste i raspoloživost mangana. U tlu se nalazi 200 – 3000 mg/kg, od toga je biljci raspoloživo 0,1 – 1,0 %. Na težim i karbonatnim tlima nalazi se više mangana dok ga je manje na pjeskovitim i lakim tlima. Prilikom dobre raspoloživosti mangana smanjuje se potreba za dušikom, fosforom, kalijem i kalcijem, dakle mangan je vrlo značajan za iskorištavanje drugih hraniva koji se nalaze u tlu. Vrlo je mala pokretljivost

mangana u biljkama. U sušnim godinama se najčešće zapaža nedostatak mangana. Mangan ima vrlo značajnu ulogu u oksidoredukcijskim procesima te sama pristupačnost mangana zavisi o oksidoredukcijskom potencijalu tla. Kada je u tlu >1000 mg/kg Mn, moguća je toksičnost mangana (*Vukadinović i Lončarić, 1998.*).

1.1. Cilj istraživanja

Cilj ovog istraživanja je bio utvrditi utjecaj svojstava tla na koncentraciju ukupnih, raspoloživih i teže topivih frakcija esencijalnih teških metala u tlu, zatim usporediti s rezultatima jednostruke ekstrakcije, te procijeniti pogodnost trostupanjske ekstrakcije za analizu esencijalnih teških metala u poljoprivrednim tlima.

2. Pregled literature

Istraživanja koja su provedena na području Vukovarsko-srijemske i Osječko-baranjske županije pokazuju kako je koncentracija teških metala u šumskim i poljoprivrednim tlima vrlo niska, te da su koncentracije niže od najvećih dopuštenih koncentracija u poljoprivrednim tlima. Dakle, naša poljoprivredna tla su neopterećena teškim metalima. Provedena su različita istraživanja u kontinentalnom dijelu Republike Hrvatske. Tako je u 617 uzoraka tla utvrđeno da su najveće prosječne ukupne koncentracije željeza, zatim mangana i cinka, a najmanje koncentracije su olova, kobalta i kadmija (*Lončarić i Ivezić, 2014.*).

Prema (*Menzies i sur., 2007.*) najrašireniji i najčešći način za utvrđivanje mobilnosti teških metala u tlima je upotreba pojedinačnih ekstrakcijskih metoda. Prilikom određivanja pojedine frakcije za ekstrakciju se koriste različiti ekstraktanti. U različitim zemljišnim uvjetima nisu sve metode jedna ko pogodne za proučavanje bioraspoloživosti svih teških metala (*Lončarić i Kadar, 2013.*).

Guo et al. (2006.) su došli do zaključka da se EDTA može smatrati pogodnom ekstrakcijskom metodom prilikom utvrđivanja mikroelemenata raspoloživih biljkama koje usvajaju velike količine teških metala, tzv. biljaka „akumulatora“.

Lončarić i sur. (2008.) istražili su biljci pristupačna i ukupna mikrohraniva na karbonatnim i kiselim tlima u Hrvatskoj. Rezultati istraživanja pokazali su da je najvišu ukupnu koncentraciju imalo željezo te najnižu nikal i bakar. Značajan utjecaj na pristupačnost mikroelemenata ima pH tla, posebno na pristupačnost željeza te mangana u karbonatnim tlima.

Kada poljoprivredno zemljište sadrži više teških metala od dozvoljenih količina smatra se onečišćenim. Maksimalno dopuštene količine cinka u poljoprivrednom zemljištu u pjeskovitom tlu su 60 mg kg^{-1} , za praškasto – ilovasta tla je dopuštena količina 150 mg kg^{-1} dok je u glinastom tlu dopuštena količina 200 mg kg^{-1} . Za nikal su dopuštene količine u pjeskovitim tlima 30 mg kg^{-1} , zatim u praškasto – ilovastim tlima 50 mg kg^{-1} , a u glinastom tlu 75 mg kg^{-1} . Kada govorimo o bakru, dopuštene količine u pjeskovitim tlima su 60 mg kg^{-1} , u praškasto – ilovastim tlima dopušteno je 90 mg kg^{-1} dok je u glinastim tlima dopuštena količina 120 mg kg^{-1} . Ukoliko je pH glinastog tla manji od 6,0 za kadmij, cink i nikal tada se primjenjuje granična vrijednost propisana za praškasto-ilovasta tla, a ako je pH praškasto-ilovastog tla manji od 6,0 primjenjuje se granična vrijednost propisana za pjeskovita tla.

(*Pravilnik o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja, NN 32/10.*). Uvjetno tumačenje maksimalno dopuštenih koncentracija prema pH vrijednostima tla posljedica je zaključaka velikog broja istraživača da raspoloživost teških metala u tlima ne ovisi samo o ukupnim koncentracijama, već i o svojstvima tla poput pH reakcije.

Ivezić i sur. (2011.) istražili su ukupne vodotopive koncentracije sedam elemenata u tragovima (Fe, Mn, Ni, Co, Mo, Pb i Cd) te procijenili njihov odnos sa ostalim svojstvima tla Podunavlja u Hrvatskoj. Uzorci su uzimani iz površinskog sloja na dubini od 0 - 25 cm sa zemljišta različite uporabne vrijednosti (šuma i poljoprivrednog zemljišta). Rezultati su pokazali da ukupna koncentracija metala ne može biti dovoljan pokazatelj raspoloživosti, toksičnosti ili nedostatka. Rezultati su pokazali da su pH, organska tvar u otopini tla i kationski izmjenjivački kapacitet (KIK) važni parametri kvalitete tla koji sudjeluju u kontroli topljivosti metala u tragovima u tlu. Zaključili su da šumska tla sadrže veće koncentracije elemenata u tragovima u otopini tla nego poljoprivredna tla.

U Republici Hrvatskoj se u analizi tla najčešće koristi AL metoda (ekstrakcija tla s amonij-laktat otopinom uz pH 3,75) koja je obvezna agrokemijska analiza tla za utvrđivanje biljkama pristupačnog fosfora i kalija. Rezultati nekih istraživanja pokazali su da se rezultati AA-EDTA (amonij-acetat – etilendiamintetraacetat) metode mogu usporediti s rezultatima AL metode i vrlo uspješno koristiti umjesto AL metode (*Pandurić i sur., 2009.*).

Kao indikatori procjene i rizika raspoloživosti metala koriste se ukupne koncentracije metala u tragovima. No istraživanja su pokazala kako je ukupna koncentracija loš pokazatelj raspoloživosti. *Ivezić i sur. (2013.)* su usporedili metode ekstrakcije metala u tragovima te korelaciju među njima. Uzorke su prikupljali s poljoprivrednih tala istočne Hrvatske. Analize uzoraka obavljene su slijedećim metodama: razaranje jakim kiselinama (HNO_3 ekstrakcija i ekstrakcija zlatotopkom (aqua regia)), zatim ekstrakcija slabom kiselinom (EDTA) te najslabija ekstrakcija vodom koja ujedno predstavlja najraspoloživiju frakciju, tj. vodotopivu frakciju u otopini tla. Rezultati istraživanja su pokazali da vodotopiva frakcija ima najbolju korelaciju s EDTA ekstrakcijom (Cu, Fe i Mn). Ukupne ekstrakcije (HNO_3 ekstrakcija i aqua regia) korelirale su s vodotopivom frakcijom samo za Cu. Korelacija između vodotopive frakcije i metoda za ukupne koncentracije ne postoji, te je to potvrdilo nepogodnost ukupne koncentracije kao pokazatelja raspoloživosti. Prema dobivenim rezultatima zaključeno je kako se EDTA ekstrakcija može koristiti za prikaz dostupne koncentracije teških metala u tlu (*Ivezić i sur. 2013.*).

Osim jednostrukih ekstrakcija, moguće je primijeniti sekvencijski postupak gdje se iz jednog uzorka pomoću više ekstrakcija pokušavaju odrediti koncentracije pojedinih frakcija i time definirati raspoloživost elemenata. Sekvencijalni postupak ekstrakcije, primijenjen je na uzorcima tla za određivanje metala (Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, Pb i Zn). Taj postupak omogućuje postupno mjerenje različitih frakcija metala iz medija, dakle pomoću nekoliko ekstrakcija: octene kiseline, hidroksilamonij klorida, vodikovog peroksida te amonijevog acetata. Dobiveni rezultati iz postupka sekvencijalne ekstrakcije uspoređeni su sa rezultatima dobivenih ekstrakcijom pomoću zlatotopke. Rezultati budu uglavnom vrlo slični, bez značajnijih odstupanja (*Tokalioglu et al, 2001.*).

S ciljem da sekvencijska metoda za frakcioniranje metala u tragovima postane standardna metoda, BCR (*Community Bureau of Reference*) je predložio i validirao modificiranu verziju trostupanske procedure ekstrakcije teških metala (*Ure i sur., 1993., Sahuquillo i sur., 1999.*).

Žemberyova i sur. (2006.) trostupanskom BCR metodom su analizirali referentne materijale tri različita tipa tla u Slovačkoj pri čemu su su ekstrahirane četiri frakcije: prva ili izmjenjiva frakcija, druga ili reducirajuća frakcija (Fe i Mn oksidi), treća ili oksidirajuća frakcija (organska tvar i sulfidi) te četvrta ili rezidualna frakcija, tj. frakcija ekstrahirana zlatotopkom iz ostataka tla. Rezultati njihova istraživanja pokazali su da je suma sve četiri frakcije bila usporediva s koncentracijama Cd, Cr, Cu, Ni, Pb i Zn koje su izmjerene nakon ekstrakcije zlatotopkom iz originalnih uzoraka.

3. Materijal i metode

Istraživanje je provedeno na 16 uzoraka tla iz Hrvatske (Osijek), Srbije (Novi Sad) i Bosne i Hercegovine (Banja Luka, Mostar i Sarajevo). Uzorci su uzimani na oraničnoj dubini (0-30 cm). Na uzorcima su provedene osnovne agrokemijske analize, te trostupanjska i jednostruka ekstrakcija esencijalnih teških metala.

3.1. Analize tla

3.1.1. *pH tla*

Jedinica pH vrijednosti predstavlja negativan dekadski logaritam koncentracije H^+ iona, odnosno njegov aktivitet (*Vukadinović i Lončarić, 1998.*). pH vrijednost ima vrlo jak utjecaj na kemijske, fizikalne i biološke procese u tlu te predstavlja najznačajniju mjeru alkalnosti ili kiselosti tla. Određivanje pH reakcije tla određeno je elektrometrijski pomoću pH-metra koji se sastoji od mjerne i referentne elektrode uronjene u 1:5 (v/v) suspenziju tla (solni most) s dejoniziranom vodom za utvrđivanje trenutne kiselosti, te s 1M otopinom KCl za utvrđivanje supstitucijske kiselosti.

3.1.2. *Sadržaj humusa*

Količina i kakvoća organske tvari tj. humusa utječe na procese tvorbe i na plodnost tla, a time i na rast biljaka. Organska tvar u tlu je nastala razgradnjom ostataka živih organizama i novom izgradnjom organskih spojeva tla bitno različitih u odnosu na izvornu živu tvar (*Vukadinović i Lončarić, 1998.*). Za životnu aktivnost mikroorganizama osnovni izvor energije je organska tvar (*Vukadinović i Lončarić, 1998.*). Humus smo određivali K-bikromatnom metodom koja se zasniva na mokrom spaljivanju organske tvari tla gdje je nakon spaljivanja organske tvari spektrofotometrijskom tehnikom i preračunavanjem određena koncentracija humusa u uzorcima tla (*ISO, 1998.*).

3.1.3. Hidrolitička kiselost

Alkalnim hidrolitičkim solima aktivira se hidrolitička ili potencijalna kiselost tla. Pri tome dolazi do zamjene H^+ i Al^{3+} iona na adsorpcijskom kompleksu tla, te nastaje octena kiselina čija se količina utvrđuje titracijom. Hidrolitička kiselost izražava se u $cmol(+) kg^{-1}$ (Vukadinović i Vukadinović, 2011.).

3.1.4. Analiza AL- pristupačnog fosfora i kalija

Lakopristupačni ili biljkama raspoloživi fosfor i kalij u tlu određeni su prema Egner-Riehm-Domingubneksrakcijom tla s amonij laktatom, tj. AL metodom (Egner et al., 1960.). Koncentracije kalija utvrđene su direktno iz ekstrakta tla emisijskom tehnikom na atomskom apsorpcijskom spektrofotometru, a fosfor je određen plavom metodom pomoću spektrofotometra. Fosfor ekstrahiran AL metodom obuhvaća biljkama raspoložive frakcije topive u vodi i u slabim kiselinama. Dobiveni rezultati izražavaju se u $mg P_2O_5$ i $K_2O 100g^{-1}$ tla (Vukadinović i Bertić, 1989.).

3.1.5. Utvrđivanje sadržaja karbonata ($CaCO_3$)

Karbonati su određeni volumetrijskom metodom gdje se mjeri oslobođeni CO_2 koji se razvija u Scheiblerovom kalcimetru prilikom reakcije tla s klorovodičnom kiselinom (ISO, 1995.a).

3.1.6. Metoda trostupanske ekstrakcije teških metala

Trostupanjska ekstrakcija je postupak koji nam omogućuje utvrditi dostupnost, mobilnost, te bioraspoloživost teških metala u tlu. Udio metala ovisi o ekstraktantu te samim radnim uvjetima u kojima se ekstrakcija provodi. Zbog toga, u pokušaju usklađivanja metodologije u cijeloj Europskoj Uniji, te radi poboljšanja usporedivosti rezultata, *The European Community of Reference* (BCR) je odredio metodologiju za sekvencijsku ekstrakciju koja je prihvaćena na razini Europske Unije (EUR 19775 EN Report of European Commission, 2001.) odnosno frakcioniranje teških metala u uzorcima tla. Sekvencijalni postupak BCR ekstrakcije je široko

primjenjen na uzorcima tla i sedimentima kao i standardnih referentnih (materijala) (Tokalioglu i sur., 2001.). Ukupna koncentracija je loš pokazatelj raspoloživosti elemenata. Ekstrakcije vodom kao najslabija ekstrakcija predstavlja najraspoloživiju frakciju (Ivezić i sur., 2013.). Razvijene metode jednostruke ekstrakcije za utvrđivanje izmjenjive frakcije elemenata u tlu su: EDTA, DTPA, NH_4NO_3 , CaCl_2 , HCl, $\text{NH}_4 - \text{OAc} + \text{EDTA}$ i dr.. Prilikom usporedbe s DTPA veći postoci teških metala ekstrahirani su s EDTA.

Za trostupanjku ekstrakciju BCR metodom potrebne su nam slijedeće kemikalije (Rauret et, 2001.):

1. otopina A: 0,11 mol/L octena kiselina
2. otopina B: 0,5 mol/L hidroksilamonij – klorid, uvijek pripremiti svježu otopinu
3. otopina C: 8,8 mol/L vodik peroksid
4. otopina D: 1,0 mol/L amonij – acetata
5. otopina E (zlatotopka): $\frac{1}{3} \text{HNO}_3 + \frac{2}{3} \text{HCl}$

Postupak trostupanjske ekstrakcije

Odvagati 0,75 g uzorka tla u posudice za sušenje i sušiti do konstantne mase na temperaturi 104°C . Tijekom sušenja pripremiti otopinu A (ledena octena kiselina). Prenijeti uzorak u posudicu za centrifugiranje i preliterati s 30 ml ledene octene kiseline nakon čega uzorke staviti na mućkanje 16 sati. Uzorke centrifugirati 20 minuta pri 3000 g, centrifugirati u serijama po šest uzoraka. Nakon centrifugiranja dekantirati supernatant u polietilenske bočice te čuvati na 4°C . Na ostatak uzorka potrebno je dodati 20 ml deionizirane vode i mućkati 15 minuta radi ispiranja uzoraka od otopine A. Slijedi ponovno centrifugiranje 20 minuta pri 3000 G. Dekantirati supernatant i odbaciti vodu, pazeći pritom da se ne odbace čestice tla.

Slijedi priprema otopine B (hidroksilamonij-klorid) i s 30 ml otopine B preliterati uzorke uz snažnije mućkanje rukom neposredno nakon dodavanja otopine. Zatim uzorke staviti na mućkanje tijekom 16 sati, te nakon toga centrifugirati 20 minuta pri 3000 G. Dekantirati supernatant u polietilenske bočice, izmjeriti ili spremati i čuvati na 4°C . Ostatku uzoraka dodati 20 ml deionizirane vode i mućkati 15 minuta radi ispiranja otopine B iz uzorka. Slijedi ponovno centrifugiranje 20 minuta pri 3000 g. Zatim dekantirati supernatant (vodu) i odbaciti pazeći na čestice tla.

Pripremiti otopinu C (H_2O_2 - vodik-peroksid) i ostatak uzorka prelići s 8 ml otopine C, pažljivim postupnim dodavanjem po 2 ml otopine C, te pričekati po desetak minuta prije svakog ponovnog dodavanja otopine C. Lagano poklopiti posudice čepom i digerirati na sobnoj temperaturi jedan sat uz povremeno miješanje posudica rukom. Prenijeti posudice u vodenu kupelj tijekom jedan sat pri temperaturi od 85°C , te ponovno dodati ukupno 8 ml otopine C na ostatak uzorka, dodavanjem po 2 ml otopine C, pričekati po pet minuta prije svakog ponovnog dodavanja otopine C. Nastaviti digestiju u vodenoj kupelji dok ne dosegne volumen $< 1\text{ mL}$, ali se uzorci ne smiju potpuno osušiti.

Pripremiti otopinu D (amonij-acetat) te dodati 37,5 ml otopine amonij-acetata na vlažni ohlađeni ostatak uzorka. Nakon toga mućkati 16 sati, te centrifugirati dvadeset minuta pri 3000 G. Dekantirati supernatant u polietilenske bočice, izmjeriti ili čuvati na 4°C . Ostatak uzorka ponovno isprati s vodom dodavanjem 20 ml deionizirane vode i mućkanjem 15 minuta. Nakon mućkanja centrifugirati 20 minuta pri 3000 G te dekantirati supernatant (vodu) pazeći na čestice tla. Uzorak na kraju prenijeti u kivetu za mikrovalnu ekstrakciju zlatotopkom za određivanje preostalog dijela, tj. ukupne koncentracije metala u ostatku uzorka. Paralelno s ekstrakcijom uzoraka iz trostupanjske ekstrakcije estrahirati zlatotopkom iste uzorke tla bez prethodne trostupanjske ekstrakcije. Nakon razaranja uzorak filtrirati u odmjerne tikvice koje su potom dopunjene deioniziranom vodom do volumena 100 ml.

3.1.7. Jednostruka ekstrakcija pomoću zlatotopke

Odvagati 0,5 g zrakosuhog tla u teflonsku kivetu, zatim prelići s 12 ml svježe pripremljene zlatotopke odnosno $1/3\text{ HNO}_3 + 2/3\text{ HCl}$. Nakon toga, ekstrakte razorenih uzoraka tla filtrirati u tikvice volumena 100 ml te potom do mjerne oznake dopuniti deioniziranom vodom (ISO 11466, 1995.).

3.1.8. Određivanje mikroelemenata ekstrahiranih s EDTA

Za ovo istraživanje korištena je jednostruka ekstrakcijska metoda mikroelemenata s otopinom EDTA odnosno etilen-diamino-tetraacetatnom kiselinom. Otopinu čini smjesa 1 M $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ i 0,01 M EDTA prilikom čega se pH otopine pomoću HCl ili NH_4OH podešava na

pH 8,6. EDTA metoda je najviše korištena u Hrvatskoj. Potrebno je odvagati 10 g zrakosuhog tla u plastičnu bočicu volumena 200 ml i preliati s 20 ml EDTA otopine. Zatim mućkati na rotacijskoj mućkalici 30 minuta, te filtrirati u tikvice volumena 100 ml. Direktno izmjeriti iz filtriranih ekstrakata koncentraciju teških metala na ICP – OES –u ili AAS – u (*Trierweiler i Lindsay, 1969.*).

3.2. Statistička obrada podataka

Obavljena je statistička obrada podataka softverskim paketima Microsoft Excel i SAS for Windows (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA).

4. Rezultati

4.1. Osnovna agrokemijska svojstva analiziranih tala

U uzorcima tla analizirana su osnovna agrokemijska svojstva, tj. pH reakcija kao trenutna i izmjenjiva kiselost tla, potom sadržaj humusa te hidrolitička kiselost ili udio karbonata. Pomoću agrokemijskih svojstava, utvrđuje se produktivnost i plodnost tla, pogodnosti za uzgoj usjeva te potrebe kondicioniranja i preporuka gnojidbe tla.

Tablica 1. Osnovna agrokemijska svojstva analiziranih tala

uzorak			pH	pH	Humus
			H ₂ O	1 M KCl	%
1	Sarajevo	2012	5,3	4,12	2,69
2	Sarajevo	2014	6,1	4,91	2,17
3	Banja Luka	2012A	5,33	4,15	3,10
4	Banja Luka	2012B	5,43	4,4	4,59
5	Banja Luka	2012C	5,11	3,96	6,34
6	Novi Sad	2012	7,42	6,5	1,79
7	Novi Sad	2012 Vašice	7,86	7,06	2,34
8	Novi Sad	2012 Neredin	7,76	7,05	2,41
9	Mostar	2012 Kruševo	7,71	7,22	3,83
10	Mostar	2013	7,66	7,05	5,48
11	Mostar	2013 Višići	7,75	7,11	4,59
12	Osijek	2012	7,8	7,21	2,43
13	Osijek	2012 Josipovac	5,57	4,32	2,1
14	Osijek	2012 Banovci	7,74	7,09	2,67
15	Osijek	2014 Klisa	8,01	7,26	2,03
16	Osijek	2014 Seleš	7,32	6,45	2,47
Prosjeak			6,87	5,99	3,19

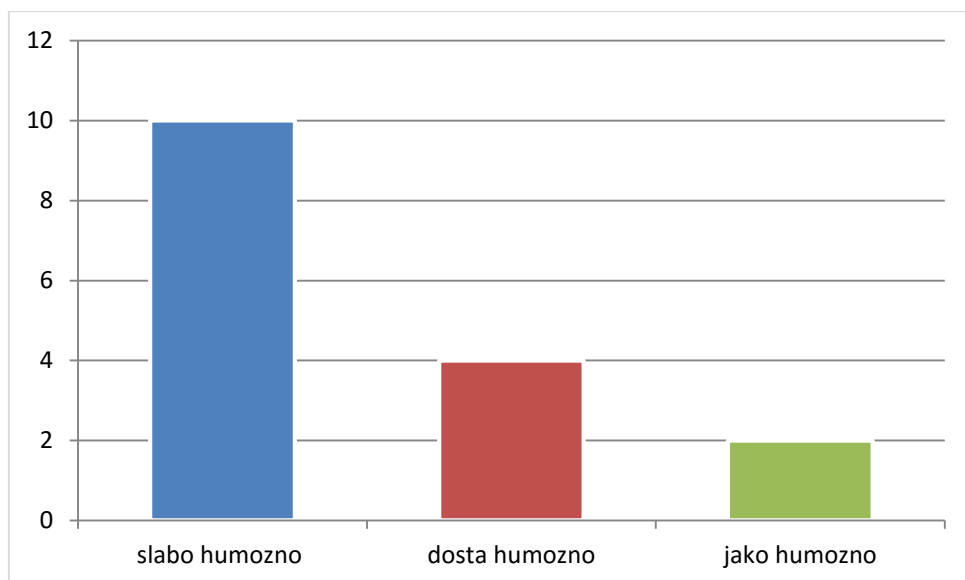
4.2. pH reakcija tla

Analizirano je 16 uzorka tla, te je utvrđen veliki raspon vrijednosti trenutne kiselosti tala od 5,11 do 8,01. Od 16 analiziranih uzorka, 4 uzorka pripada jako kiselom tlu, 1 uzorak umjereno kiselom te 1 uzorak slabo kiselom tlu, 8 uzoraka slabo alkalnim i 2 uzorka jako alkalnim tlu.

Izmjenjive kiselosti analiziranih uzoraka tla kreću se od 3,96 do 7,26. Od 16 analiziranih uzorka, 1 uzorak pripada izrazito kiselom tlu, 2 uzorka pripadaju slabo kiselom tlu dok jako kiselom tlu pripada 5 uzoraka. 8 uzoraka pripada slabo alkalnim tlu (*Scheffer i Schachtschabel*).

4.3. Sadržaj humusa

Uzorci tla se prema sadržaju humusa svrstavaju u nekoliko kategorija, 10 uzoraka pripada kategoriji slabo humoznih tala (1,79 % – 2,69 %), 4 uzorka dosta humoznim tlu (3,10 % - 4,59 %) dok 2 uzorka pripadaju kategoriji jako humoznih tala (5,48 – 6,34 %) (*Škorić, 1992.*).



Grafikon 1. Sadržaj humusa u tlu

4.4. Koncentracije mikroelemanta ekstrahirane s EDTA

Raspoložive frakcije mikroelemenata ekstrahiraju se EDTA metodom. U odnosu na ukupne koncentracije esencijalnih teških metala dobivene razaranjem tla zlatotopkom, očekivano su koncentracije svih elemenata ekstrahirane EDTA metodom značajno nižih vrijednosti.

Tablica 2. Raspoložive frakcije Fe, Zn i Ni ekstrahirane s EDTA metodom

Uzorci		EDTA Fe	EDTA Zn	EDTA Ni
1	Sarajevo 2012	562,30	3,41	1,04
2	Sarajevo 2014	199,30	3,95	1,89
3	Banja Luka 2012A	468,90	1,66	1,68
4	Banja Luka 2012B	401,40	2,52	1,04
5	Banja Luka 2012C	309,90	6,30	8,78
6	Novi Sad 2012	114,60	1,90	1,55
7	Novi Sad 2012 Vašice	36,18	0,99	1,73
8	Novi Sad 2012 Neredin	37,21	1,40	1,81
9	Mostar 2012 Kruševo	109,70	5,04	4,27
10	Mostar 2013	291,00	3,59	4,19
11	Mostar 2013 Višići	252,90	2,44	3,52
12	Osijek 2012	50,04	1,58	1,55
13	Osijek 2012 Josipovac	1.221,00	4,58	2,10
14	Osijek 2012 Banovci	42,73	0,93	1,77
15	Osijek 2014 Klisa	44,10	1,55	2,20
16	Osijek 2014 Seleš	70,50	1,79	2,70
Prosjek		263,24	2,73	2,61

Utvrđena je prosječna koncentracija raspoložive frakcije željeza ekstrahirane s EDTA otopinom 263,24 mg/kg s rasponom od 36,18 do 1.221,00 mg/kg. U tlu je utvrđeno znatno više raspoložive frakcije željeza od svih ostalih analiziranih elemenata.

U analiziranim uzorcima tla utvrđena je prosječna raspoloživost cinka 2,73 mg/kg. Možemo zaključiti da je u tlima prosječno manje raspoloživog cinka u odnosu na željezo. Najveća raspoloživost cinka bila je 6,30 mg/kg dok je najmanja raspoloživost bila 0,93 mg/kg. Tla koja sadrže minimalne količine raspoloživog cinka pripadaju cinkom siromašnim tlima.

Metodom ekstrakcije s EDTA utvrđeno je da je prosječna koncentracija raspoloživog nikla u tlu 2,61 mg/kg. Maksimalna raspoloživost nikla bila je 8,78 mg/kg dok je minimalna raspoloživost bila 1,04 mg/kg.

4.5. Trostupanjska ekstrakcija esencijalnih teških metala u tlu

Trostupanjskim postupkom ekstrahirani su esencijalni teški metali željezo, mangan, cink, bakar i nikel. Analizirane su koncentracije elemenata i udio svakog elementa po frakcijama.

4.5.1. Prva frakcija esencijalnih teških metala u tlu

Prva frakcija ekstrahirana je ledenom octenom kiselinom (0,11 mol/L). Pomoću octene kiseline iz uzoraka tla ekstrahirana je lako raspoloživa frakcija tj. koncentracija elemenata u vodenoj otopini tla.

Tablica 3. Prosječne koncentracije prve frakcije u mg/kg

Uzorci	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni
1 Sarajevo 2012	6,25	222,54	1,89	0,50	0,65
2 Sarajevo 2014	2,59	122,70	2,09	0,64	1,13
3 Banja Luka 2012A	2,57	241,12	1,11	0,20	0,95
4 Banja Luka 2012B	3,06	179,37	1,88	0,14	0,46
5 Banja Luka 2012C	11,37	370,95	2,50	0,36	4,10
6 Novi Sad 2012	2,11	67,25	0,63	0,18	0,95
7 Novi Sad 2012 Vašice	0,53	44,52	0,48	0,16	0,78
8 Novi Sad 2012 Neredin	0,74	87,69	0,33	0,23	1,45
9 Mostar 2012 Kruševo	0,00	165,79	0,72	0,37	1,19
10 Mostar 2013	1,49	134,62	0,89	0,45	1,15
11 Mostar 2013 Višići	5,48	133,08	0,62	0,43	1,11
12 Osijek 2012	0,73	110,89	0,79	0,27	0,84
13 Osijek 2012 Josipovac	5,89	147,96	1,96	0,77	1,06
14 Osijek 2012 Banovci	0,32	90,24	0,15	0,21	0,54
15 Osijek 2014 Klisa	0,01	83,22	0,27	0,20	0,79
16 Osijek 2014 Seleš	2,26	91,67	0,72	0,23	1,10
Prosjek	2,84	143,35	1,07	0,33	1,14

Najveća je koncentracije ekstrahiranog mangana s prosječno 143,35 mg/kg, slijedi željezo s prosječno 2,84 mg/kg, zatim nikal (1,14 mg/kg) i cink (1,07 mg/kg) te je najmanja koncentracija 1. frakcije bakra (0,33 mg/kg).

4.5.2. Druga frakcija esencijalnih teških metala u tlu

Druga frakcija predstavlja reducirajuću frakciju koja je ekstrahirana otopinom 0,5 mol/dm³ hidroksilamonij – klorida.

Tablica 4. Prosječne koncentracije druge frakcije u mg/kg

Uzorci	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni
1 Sarajevo 2012	1.418,71	370,49	2,10	1,73	0,69
2 Sarajevo 2014	2.488,50	827,07	5,49	6,89	3,09
3 Banja Luka 2012A	2.189,56	727,10	1,94	1,70	1,53
4 Banja Luka 2012B	2.155,03	796,83	2,18	1,81	1,08
5 Banja Luka 2012C	4.225,24	1.856,96	7,95	3,65	9,06
6 Novi Sad 2012	2.132,75	164,07	5,24	4,42	2,74
7 Novi Sad 2012 Vašice	1.413,78	209,13	5,04	2,64	4,73
8 Novi Sad 2012 Neredin	1.684,05	475,56	5,73	5,62	6,53
9 Mostar 2012 Kruševo	2.400,25	589,94	13,59	9,26	10,48
10 Mostar 2013	4.199,12	130,85	16,26	6,81	9,97
11 Mostar 2013 Višići	4.107,81	132,66	15,37	7,40	9,38
12 Osijek 2012	1.283,14	208,63	5,54	3,25	3,77
13 Osijek 2012 Josipovac	3.062,76	306,98	3,52	3,37	0,97
14 Osijek 2012 Banovci	1.442,98	301,35	5,24	2,34	4,33
15 Osijek 2014 Klisa	1.352,67	310,50	5,84	2,98	5,37
16 Osijek 2014 Seleš	2.443,96	227,74	8,30	3,69	4,26
Prosjek	2.375,02	477,24	6,83	4,22	4,87

Za razliku od prve frakcije, željezo je u drugoj frakciji utvrđeno u najvećim koncentracijama. Prosječna koncentracija željeza iznosi 2.375,02 mg/kg dok je u ovoj ekstrakciji mangan na drugom mjestu s prosječnom koncentracijom 477,24 mg/kg. Zatim slijede cink (6,83mg/kg) i nikal (4,87 mg/kg) te na zadnjem mjestu kao i kod prve frakcije bakar s prosječnom koncentracijom 4,22 mg/kg.

4.5.3. Treća frakcija esencijalnih teških metala

Treća frakcija predstavlja oksidirajuću frakciju koja je ekstrahirana pomoću 8,8 mol/L vodik peroksid.

Tablica 5. Prosječne koncentracije treće frakcije u mg/kg

Uzorci	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni
1 Sarajevo 2012	347,45	48,16	5,94	0,66	1,03
2 Sarajevo 2014	354,63	61,89	5,22	1,63	2,83
3 Banja Luka 2012A	326,42	70,00	3,91	0,67	2,09
4 Banja Luka 2012B	756,78	90,10	3,58	0,76	1,61
5 Banja Luka 2012C	1.693,67	213,88	14,11	1,79	17,50
6 Novi Sad 2012	374,66	27,46	4,34	1,12	4,17
7 Novi Sad 2012 Vašice	366,19	29,41	5,13	1,04	7,52
8 Novi Sad 2012 Neredin	285,19	31,95	5,19	1,08	7,12
9 Mostar 2012 Kruševo	389,91	35,38	14,30	2,09	17,16
10 Mostar 2013	1.446,16	22,87	28,74	5,40	24,62
11 Mostar 2013 Višići	976,65	21,26	24,90	4,07	23,38
12 Osijek 2012	501,86	27,98	8,92	1,57	8,96
13 Osijek 2012 Josipovac	353,04	27,80	8,04	1,05	2,48
14 Osijek 2012 Banovci	656,27	35,72	8,20	1,45	8,33
15 Osijek 2014 Klisa	365,82	35,63	6,32	1,29	7,51
16 Osijek 2014 Seleš	474,98	40,42	5,82	1,44	7,42
Prosjek	604,35	51,25	9,54	1,69	8,98

U trećoj frakciji na prvom je mjestu prema ekstrahiranim količinama ponovo željezo s prosječnom koncentracijom 604,35 mg/kg, zatim mangan s prosječnom koncentracijom 51,25 mg/kg. Na trećem mjestu je cink (9,54 mg/kg), na četvrtom nikal (8,98 mg/kg) te slijedi bakar kao i u prve dvije frakcije na zadnjem mjestu s prosječnom koncentracijom 1,69 mg/kg.

4.5.4. Četvrta frakcija esencijalnih teških metala

Četvrta frakcija esencijalnih teških metala ekstrahirana je zlatotopkom ($1/3 \text{ HNO}_3 + 2/3 \text{ HCl}$) iz ostataka uzoraka nakon trostupanjske ekstrakcije i predstavlja rezidualni ostatak.

Tablica 6. Prosječne koncentracije četvrte frakcije u mg/kg

Uzorci	Fe	Mn	Zn	Cu	Ni
1 Sarajevo 2012	13.124,75	80,93	56,73	6,23	9,69
2 Sarajevo 2014	25.654,61	184,29	71,14	17,96	31,26
3 Banja Luka 2012A	28.510,00	241,30	57,06	10,60	30,03
4 Banja Luka 2012B	32.630,42	264,64	74,88	15,73	27,11
5 Banja Luka 2012C	38.504,61	237,70	101,96	49,26	113,75
6 Novi Sad 2012	28.228,71	200,02	60,62	16,42	24,02
7 Novi Sad 2012 Vašice	34.569,26	207,57	61,45	18,81	26,64
8 Novi Sad 2012 Neredin	32.060,76	211,47	65,62	21,03	30,25
9 Mostar 2012 Kruševo	42.835,73	164,57	113,61	41,69	69,83
10 Mostar 2013	37.227,01	134,94	110,41	35,13	70,37
11 Mostar 2013 Višići	38.260,00	141,60	114,60	35,61	72,11
12 Osijek 2012	33.782,70	210,11	64,94	21,33	25,83
13 Osijek 2012 Josipovac	25.594,41	251,15	62,61	12,39	23,53
14 Osijek 2012 Banovci	32.957,04	226,87	62,81	21,11	23,39
15 Osijek 2014 Klisa	34.793,04	270,25	68,42	23,33	25,87
16 Osijek 2014 Seleš	34.701,42	252,55	65,35	23,34	27,89
Prosjek	32.089,65	205,10	75,76	23,12	39,47

U rezidualnoj četvrtoj frakciji ponovo su utvrđene najveće koncentracije željeza s prosječnom koncentracijom 32.089,65 mg/kg. Koncentracije mangana, koji je na drugom mjestu, znatno su veće nego u prethodnim frakcijama (205,10 mg/kg), kao i rezidualne frakcije preostala tri elementa. Po koncentracijama nakon željeza i mangana slijede cink (75,76 mg/kg), zatim nikal (39,47 mg/kg) te na zadnjem mjestu ponovo bakar s prosječnom koncentracijom 23,12 mg/kg.

4.6. Usporedba jednostruke i trostupanske ekstrakcije esencijalnih teških metala

4.6.1. Jednostruka ekstrakcija željeza zlatotopkom

Tablica 7. Suma frakcija Fe (frakcije 1-4) i jednostruka ekstrakcija zlatotopkom

Uzorci		Fe suma frakcija 1-4 (mg/kg)	Fe zlatotopka (mg/kg)
1	Sarajevo 2012	14.897,16	13.350,00
2	Sarajevo 2014	28.500,33	24.330,00
3	Banja Luka 2012A	31.028,55	28.900,00
4	Banja Luka 2012B	35.545,29	33.350,00
5	Banja Luka 2012C	44.434,87	38.270,00
6	Novi Sad 2012	30.738,23	27.760,00
7	Novi Sad 2012 Vašice	36.349,76	30.720,00
8	Novi Sad 2012 Neredin	34.030,74	31.180,00
9	Mostar 2012 Kruševo	45.625,90	36.060,00
10	Mostar 2013	42.873,79	33.230,00
11	Mostar 2013 Višići	43.349,95	34.310,00
12	Osijek 2012	35.568,44	27.750,00
13	Osijek 2012 Josipovac	29.016,11	29.500,00
14	Osijek 2012 Banovci	35.056,61	27.710,00
15	Osijek 2014 Klisa	36.511,54	28.610,00
16	Osijek 2014 Seleš	37.622,62	32.300,00
Prosjeck		35.071,87	29.833,12

Suma sve četiri frakcije željeza trebala bi biti jednaka ukupnoj količini ekstrahiranoj jednostrukom ekstrakcijom sa zlatotopkom. Kod prvih 8 uzoraka su mala odstupanja. Možemo vidjeti velika odstupanja kod željeza od 9 do 12 uzorka, a kod ostalih uzoraka su ponovo manja odstupanja.

4.6.2. Jednostruka ekstrakcija mangana zlatotopkom

Tablica 8. Suma frakcija Mn (frakcije 1-4) i jednostruka ekstrakcija zlatotopkom

Uzorci		Mn suma frakcija 1-4 (mg/kg)	Mn zlatotopka (mg/kg)
1	Sarajevo 2012	722,11	659,00
2	Sarajevo 2014	1.195,95	666,90
3	Banja Luka 2012A	1.279,52	1.077,00
4	Banja Luka 2012B	1.330,94	1.112,00
5	Banja Luka 2012C	2.679,49	2.594
6	Novi Sad 2012	458,81	558,20
7	Novi Sad 2012 Vašice	490,63	451,30
8	Novi Sad 2012 Neredin	806,68	793,20
9	Mostar 2012 Kruševo	955,68	941,80
10	Mostar 2013	423,28	388,00
11	Mostar 2013 Višići	428,60	398,50
12	Osijek 2012	557,60	493,10
13	Osijek 2012 Josipovac	733,90	670,80
14	Osijek 2012 Banovci	654,19	633,30
15	Osijek 2014 Klisa	699,60	663,60
16	Osijek 2014 Seleš	612,38	647,50
Prosjek		876,83	796,76

Kod mangana je veliko odstupanja samo kod drugog uzorka (Sarajevo 2014), a kod ostalih uzoraka odstupanja su mala.

4.6.3. Jednostruka ekstrakcija cinka zlatotopkom

Tablica 9. Suma frakcija Zn (frakcije 1-4) i jednostruka ekstrakcija zlatotopkom

Uzorci		Zn suma frakcija 1-4 (mg/kg)	Zn zlatotopka (mg/kg)
1	Sarajevo 2012	66,67	57,78
2	Sarajevo 2014	83,93	70,70
3	Banja Luka 2012A	64,03	57,35
4	Banja Luka 2012B	82,54	75,47
5	Banja Luka 2012C	126,52	104,30
6	Novi Sad 2012	70,83	60,97
7	Novi Sad 2012 Vašice	72,10	58,23
8	Novi Sad 2012 Neredin	76,87	66,01
9	Mostar 2012 Kruševo	142,22	94,48
10	Mostar 2013	156,30	98,63
11	Mostar 2013 Višići	155,49	101,60
12	Osijek 2012	80,19	50,74
13	Osijek 2012 Josipovac	76,11	56,62
14	Osijek 2012 Banovci	76,39	49,73
15	Osijek 2014 Klisa	80,85	52,41
16	Osijek 2014 Seleš	80,20	56,31
Prosjek		93,20	69,46

Usporedbom sume sve četiri frakcije cinka sa uzorcima jednostruko ekstrahiranih zlatotopkom, možemo zaključiti kako su kod 7 uzoraka (uzorci 5, 9, 10, 11, 12, 15, 16) odstupanja veća, dok su kod ostalih uzorka odstupanja manja.

4.6.4. Jednostruka ekstrakcija bakra zlatotopkom

Tablica 10. Suma frakcija Cu (frakcije 1-4) i jednostruka ekstrakcija zlatotopkom

Uzorci		Cu Suma frakcija 1-4 (mg/kg)	Cu Zlatotopka (mg/kg)
1	Sarajevo 2012	9,12	8,17
2	Sarajevo 2014	27,12	23,81
3	Banja Luka 2012A	13,17	11,96
4	Banja Luka 2012B	18,44	16,81
5	Banja Luka 2012C	55,06	45,60
6	Novi Sad 2012	22,15	20,42
7	Novi Sad 2012 Vašice	22,64	20,26
8	Novi Sad 2012 Neredin	27,95	26,30
9	Mostar 2012 Kruševo	53,41	42,68
10	Mostar 2013	47,80	40,01
11	Mostar 2013 Višići	47,52	40,16
12	Osijek 2012	26,42	21,84
13	Osijek 2012 Josipovac	17,57	16,30
14	Osijek 2012 Banovci	25,11	21,80
15	Osijek 2014 Klisa	27,81	22,65
16	Osijek 2014 Seleš	28,70	24,11
Prosjek		29,37	25,18

Kod bakra su veća odstupanja samo kod 3 uzorka (9, 10 i 11), a kod ostalih uzoraka su mala odstupanja.

4.6.5. Jednostruka ekstrakcija nikla zlatotopkom

Tablica 11. Suma frakcija Ni (frakcije 1-4) i jednostruka ekstrakcija zlatotopkom

Uzorci	Ni Suma frakcija 1-4 (mg/kg)	Ni Zlatotopka (mg/kg)
1 Sarajevo 2012	12,06	10,53
2 Sarajevo 2014	38,31	32,10
3 Banja Luka 2012A	34,60	31,47
4 Banja Luka 2012B	30,27	27,81
5 Banja Luka 2012C	144,41	120,70
6 Novi Sad 2012	31,89	27,76
7 Novi Sad 2012 Vašice	39,68	32,68
8 Novi Sad 2012 Neredin	45,36	40,13
9 Mostar 2012 Kruševo	98,66	69,06
10 Mostar 2013	106,11	72,22
11 Mostar 2013 Višići	105,97	74,21
12 Osijek 2012	39,41	27,55
13 Osijek 2012 Josipovac	28,03	22,80
14 Osijek 2012 Banovci	36,59	26,55
15 Osijek 2014 Klisa	39,54	28,67
16 Osijek 2014 Seleš	40,67	30,94
Prosjek	54,47	42,20

Usporedbom sume sve četiri frakcije nikla s uzorcima ekstrahiranih sa zlatotopkom možemo zaključiti da su kod 6 uzoraka (5, 8, 10, 11, 15, 16) velika odstupanja, a ostali uzorci su malih odstupanja.

5. Rasprava

Rezultati analiza pokazuju da se u analiziranim uzorcima pH reakcija tla u vodi kretala u rasponu od 5,11 do 8,01, tj. u rasponu od jako kiselih do jako alkalnih tala. Najviše uzoraka (8) pripada slabo alkalnim tlima, dok 4 uzorka pripadaju jako kiselim tlima. Zatim, jedan uzorak pripada umjereno kiselim tlima, 1 slabo kiselim tlima, a 2 uzorka jako alkalnim tlima. Sumarno, ukupno 6 uzoraka pripada kiselim tlima dok 10 uzoraka pripada alkalnim tlima. Vrijednosti izmjenjive kiselosti tla kreću se od 3,96 do 7,26. Najviše uzoraka (8) pripada slabo alkalnim tlima, 5 uzoraka pripada jako kiselim, 2 slabo kiselim, a 1 uzorak pripada izrazito kiselim tlima. (*Scheffer i Schachtschabel*). Utvrđen je širok raspon sadržaja humusa od 1,79 do 6,34 %. Utvrđen je čitav niz statistički značajnih korelacija između pH reakcije tla i humoznosti s koncentracijama pojedinih frakcija analiziranih teških metala.

Niz koncentracija ukupnih teških metala je $\text{Fe} > \text{Mn} > \text{Zn} > \text{Ni} > \text{Cu}$, u očekivanom nizu opadajuće koncentracije, što je u skladu s prethodnim istraživanjima (*Lončarić i sur., 2012.*).

Frakcija raspoloživog željeza ekstrahirana EDTA metodom pokazala je da je raspoloživost bila najveća u umjereno kiselom tlu (1.221,00 mg/kg), a najmanja raspoloživost željeza bila je u jako alkalnom tlu i iznosila je 36,18 mg/kg. Prosječno je raspoloživa frakcija željeza utvrđena EDTA metodom bila 263,24 mg/kg što je 0,88 % prosječne ukupne koncentracije željeza u analiziranim tlima (29.833 mg/kg). U alkalnom tlu s najmanjom koncentracijom raspoloživog željeza (36,18 mg/kg) uz $\text{pH}_{\text{KCl}} = 7,06$, ta je frakcija činila samo 0,12 % ukupne koncentracije željeza (30.720 mg/kg), dok je u kiselom tlu s $\text{pH}_{\text{KCl}} = 4,32$ najveća koncentracija Fe ekstrahiranog s EDTA (1.221 mg/kg) bila 4,14 % ukupne koncentracije željeza (29.500 mg/kg). Prikazani rezultati pokazuju da raspoloživost željeza značajno ovisi o kiselosti tla.

Prosječno je frakcija cinka ekstrahirana EDTA metodom bila 2,73 mg/kg što je 3,93 % prosječnih ukupnih koncentracija cinka (69,46 mg/kg) u analiziranim tlima. Najveća je raspoloživost (6,3 mg/kg Zn) utvrđena u jako kiselom tlu ($\text{pH}_{\text{KCl}} = 3,96$), što iznosi 6,04 % ukupne koncentracije Zn (104,3 mg/kg). Najmanja raspoloživost Zn (0,93 mg/kg) bila je 1,87 % ukupne koncentracije Zn (49,73 mg/kg) i utvrđena je u slabo alkalnom tlu ($\text{pH}_{\text{KCl}} = 7,09$). Prema *Trierweiler and Lindsay (1969.)*, opskrbljenost cinkom je srednja do visoka.

Prosječne koncentracije raspoloživog nikla ekstrahiranog EDTA otopinom bile su 2,61 mg/kg od ukupnih 42,2 mg/kg, što čini 6,19 %. Najveća koncentracija raspoloživog nikla (8,78 mg/kg) utvrđena je u jako kiselom tlu ($\text{pH}_{\text{KCl}} = 3,96$), a iznosi 7,27 % ukupno utvrđenog nikla (120,7 mg/kg). Međutim, najmanja koncentracija raspoloživog nikla (1,04 mg/kg) također je utvrđena u jako kiselom tlu ($\text{pH}_{\text{KCl}} = 4,12$), a iznosila je 9,88 % ukupno utvrđenog nikla (10,53 mg/kg).

Za željezo legislativom nije propisana maksimalno dopuštena koncentracija (MDK) u gnojivima i tlu. Željezo je esencijalni element, a ujedno i teški metal najvećih koncentracija u tlima, kako ukupnih tako i biljci raspoloživih frakcija. Ukupne prosječne koncentracije željeza u analiziranim tlima iznosile su 29.833,12 mg/kg (raspon 13.350-38.270 mg/kg), što je znatno više u odnosu na ukupne koncentracije drugog po redu teškog metala odnosno mangana.

Prema ukupnim i raspoloživim koncentracijama u tlu, mangan je drugi po redu teški metal. Ukupne koncentracije mangana su znatno manje nego koncentracije željeza. Ukupne prosječne koncentracije mangana iznosile su 796,76 mg/kg uz znatno užu raspon koncentracija nego željezo (388-1.112 mg/kg). Kao i željezo, mangan je esencijalni element kojemu legislativom nije propisana maksimalna dopuštena koncentracija (MDK) u tlu i gnojivima.

Esencijalni teški metal je i cink (Zn), ali su njegove količine u tlu znatno manje u odnosu na željezo i mangan. Prema Pravilniku o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja (NN 9/2014), radi potencijalno velikog unosa cinka u tlo, propisane su MDK za poljoprivredna tla, i to za praškasto – ilovasta tla 150 mg/kg, a za glinasta tla 200 mg/kg. Prosjek koncentracija cinka utvrđenih jednostrukom ekstrakcijom sa zlatotopkom u svim analiziranim tlima je manje od vrijednosti MDK (69,46 mg/kg), s rasponom 49,73 do 104,30 mg/kg. Samo je u dva uzorka tla ukupna koncentracija cinka nešto iznad 100 mg/kg, što je još uvijek znatno niže od MDK vrijednosti za ilovasta tla. Možemo zaključiti da se sva analizirana tla prema koncentracijama cinka mogu koristiti u poljoprivrednoj proizvodnji.

Bakar je esencijalni teški metal, kao i kod cinka, ukupne količine u tlima su značajno manje nego količine željeza i mangana, ali bakar je na zadnjem mjestu od analiziranih teških metala jer su njegove koncentracije manje i od koncentracija nikla. Bakar može biti toksičan ako su primjenjene prevelike količine. Stoga su za bakar također propisane MDK za praškasto-ilovasta 90 mg/kg te za glinasta tla 120 mg/kg. Prosječna koncentracija ukupnog bakra u analiziranim je tlima 25,18 mg/kg s rasponom 8,17-45,60 mg/kg. Dakle, sve vrijednosti su značajno ispod propisanih vrijednosti MDK. Niti jedan uzorak nema veću koncentraciju od

45,6 mg/kg što je oko 50 % MDK za praškasto-ilovasta tla. Dakle, analizirana tla se i prema koncentracijama bakra mogu koristiti u poljoprivrednoj proizvodnji.

Nikal je prema ukupnim koncentracijama u tlu nakon Fe, Mn i Zn. Također je esencijalni teški metal za biljke koje ga trebaju u malim količinama te niskim koncentracijama, dok za ljude i životinje može biti toksični metal. Za nikal su propisane MDK za praškasto-ilovasta tla 50, te za glinasta tla 75 mg/kg. Prosječna koncentracija ukupnog nikla (42,20 mg/kg) bila je ispod vrijednosti MDK. Međutim, u tri je uzoraka utvrđeno ukupnog nikla > 50 mg/kg (MDK za praškasto-ilovasta tla), ali manje od 75 mg/kg (MDK za glinasta tla). Ipak, u jednom je uzorku utvrđeno 120,77 mg/kg što je iznad MDK za glinasta tla i možemo zaključiti da je analizirano tlo zagađeno, dok su tla ostalih površina pogodna za poljoprivrednu proizvodnju.

U analiziranim tlima utvrđene koncentracije pojedinih frakcija esencijalnih teških metala ukazuju na značajan utjecaj pH reakcije tla i humoznosti. Utvrđena je statistički vrlo značajna ($r=-0,706^{**}$) negativna korelacija između pH tla i 1. frakcije Fe u tlu te je utvrđena i statistički značajna ($r=0,56^{*}$) pozitivna korelacija između pH tla i 4. frakcije Fe u tlu, dok između pH vrijednosti i 2. i 3. frakcije nije utvrđena korelacija. Kada govorimo o humoznosti tla, utvrđena je statistički vrlo značajna pozitivna korelacija između humoznosti tla i 2. ($r=0,757^{**}$) i 3. ($r=0,906^{**}$) frakcije Fe u tlu te značajna korelacija između humoznosti i 1. ($r=0,518^{*}$) i 4. ($r=0,482^{*}$) frakcije Fe u tlu. U tlima najniže pH reakcije utvrđen je najveći postotni udio prve frakcije Fe, što ukazuje na značajan utjecaj povećane kiselosti tla (niža pH vrijednost) na povećanu raspoloživost Fe.

Za Mn je utvrđena statistički vrlo značajna negativna korelacija između pH tla i 1. ($r=-0,732^{**}$), 2. ($r=-0,619^{**}$) i 3. ($r=-0,617^{**}$) frakcije Mn u tlu dok za 4. frakciju nije utvrđena korelacija. Statistički vrlo značajna pozitivna korelacija utvrđena je između humoznosti tla i 1. ($r=0,666^{**}$) frakcije Mn, te je utvrđena značajna korelacija između humoznosti i 2. ($r=0,537^{*}$) i 3. ($r=0,602^{*}$) frakcije Mn u tlu. Za 4. frakciju nije utvrđena korelacija. Zaključujemo također da niža pH vrijednost značajno povećava raspoloživost i topivost mangana u tlu.

Za Zn je utvrđena statistički vrlo značajna ($r=-0,889^{**}$) negativna korelacija pH tla i 1. frakcije Fe u tlu dok kod 3. i 4. frakcije nije utvrđena korelacija. Između pH tla i 2. frakcije utvrđena je značajna ($r=0,538^{*}$) pozitivna korelacija Zn u tlu. U 1. frakciji između Zn i humoznosti nema korelacije, dok je utvrđena vrlo značajna pozitivna korelacija između humoznosti i 3. ($r=0,683^{**}$) i 4. ($r=0,788^{**}$) frakciju Zn u tlu. Također je utvrđena i značajna

pozitivna korelacija između humoznosti i 2. frakcije ($r=0,533^*$) Zn u tlu. Zaključujemo da kiselost tla na topivost cinka utječe u manjoj mjeri nego na željezo i mangan, ali je taj utjecaj vrlo značajan na najtopiviju prvu frakciju cinka u tlu.

Između pH tla i frakcija Cu nije utvrđena korelacija. Utvrđena je statistički vrlo značajna pozitivna korelacija između humoznosti tla i 4. ($r=0,719^{**}$) frakcije Cu u tlu te je značajna korelacija između humoznosti i 3. ($r=0,580^*$) frakcije Cu u tlu. Zaključujemo da pH reakcija ne utječe značajno na topivost bakra, ali na raspoloživost bakra značajno utječe humoznost tla.

Kod Ni je utvrđena statistički značajna ($r=0,527^*$) pozitivna korelacija između pH tla i 2. frakcije Ni u tlu dok kod 1., 3. i 4. frakcije nije utvrđena korelacija. Također je utvrđena statistički vrlo značajna pozitivna korelacija između humoznosti i 3. ($r=0,694^{**}$) i 4. ($r=0,853^{**}$) frakcije Ni u tlu dok je utvrđena statistički značajna korelacija između humoznosti i 1. ($r=0,591^*$) i 2. ($r=0,597^*$) frakcije Ni u tlu. Zaključujemo da kiselost u maloj mjeri utječe na topivost nikla, a humoznost ipak nešto značajnije utječe na frakcije Ni u tlu.

Značajan utjecaj humoznosti i kiselosti tla utvrđen je i statistički značajnom multiregresijom između frakcija Fe, Mn, Zn, Cu i Ni, te ukupnih koncentracija Fe, Mn, Zn, Cu i Ni, humoznosti i pH reakcije tla. Tako je uz pomoć podataka o ukupnim koncentracijama teškog metala, pH vrijednosti i sadržaja humusa, moguće predvidjeti koncentraciju sve četiri frakcije određenog teškog metala:

Multiregresijske jednadžbe za izračun koncentracija izmjenjive prve frakcije:

$$\text{Fe (mg/kg)} = 1,66 \cdot 10^{-5} \text{Fe}_{\text{Ukupni}} - 0,456 \text{pH}_{\text{KCl}} + 1,48 \text{humus} \quad (r^2 = 0,69)$$

$$\text{Mn (mg/kg)} = 0,051 \text{Mn}_{\text{Ukupni}} - 25,191 \text{pH}_{\text{KCl}} + 23,13 \text{humus} \quad (r^2 = 0,87)$$

$$\text{Zn (mg/kg)} = 0,009 \text{Zn}_{\text{Ukupni}} - 0,557 \text{pH}_{\text{KCl}} - 0,081 \text{humus} \quad (r^2 = 0,86)$$

$$\text{Cu (mg/kg)} = 0,012 \text{Cu}_{\text{Ukupni}} - 0,111 \text{pH}_{\text{KCl}} - 0,102 \text{humus} \quad (r^2 = 0,37)$$

$$\text{Ni (mg/kg)} = 0,029 \text{Ni}_{\text{Ukupni}} - 0,361 \text{pH}_{\text{KCl}} - 0,389 \text{humus} \quad (r^2 = 0,77)$$

Multiregresijske jednadžbe za izračun koncentracija reducirajuće druge frakcije:

$$\text{Fe (mg/kg)} = 0,048 \text{Fe}_{\text{Ukupni}} - 115,25 \text{pH}_{\text{KCl}} + 427,89 \text{humus} \quad (r^2 = 0,94)$$

$$\text{Mn (mg/kg)} = 0,799 \text{Mn}_{\text{Ukupni}} + 13,696 \text{pH}_{\text{KCl}} - 5,819 \text{humus} \quad (r^2 = 0,99)$$

$$\text{Zn (mg/kg)} = 0,145 \text{Zn}_{\text{Ukupni}} + 0,698 \text{pH}_{\text{KCl}} - 0,705 \text{humus} \quad (r^2 = 0,96)$$

$$\text{Cu (mg/kg)} = 0,188 \text{Cu}_{\text{Ukupni}} - 0,148 \text{pH}_{\text{KCl}} - 0,95 \text{humus} \quad (r^2 = 0,66)$$

$$\text{Ni (mg/kg)} = 0,078 \text{Ni}_{\text{Ukupni}} + 0,972 \text{pH}_{\text{KCl}} - 0,134 \text{humus} \quad (r^2 = 0,96)$$

Multiregresijske jednadžbe za izračun koncentracija oksidirajuće treće frakcije:

$$\text{Fe (mg/kg)} = -0,0047 \text{ Fe}_{\text{Ukupni}} - 11,966 \text{ pH}_{\text{KCl}} + 268,1 \text{ humus} \quad (r^2 = 0,93)$$

$$\text{Mn (mg/kg)} = 0,075 \text{ Mn}_{\text{Ukupni}} - 0,504 \text{ pH}_{\text{KCl}} + 3,736 \text{ humus} \quad (r^2 = 0,95)$$

$$\text{Zn (mg/kg)} = 0,213 \text{ Zn}_{\text{Ukupni}} + 0,326 \text{ pH}_{\text{KCl}} - 0,006 \text{ humus} \quad (r^2 = 0,86)$$

$$\text{Cu (mg/kg)} = 0,015 \text{ Cu}_{\text{Ukupni}} + 0,423 \text{ pH}_{\text{KCl}} + 0,521 \text{ humus} \quad (r^2 = 0,62)$$

$$\text{Ni (mg/kg)} = 0,123 \text{ Ni}_{\text{Ukupni}} + 2,44 \text{ pH}_{\text{KCl}} + 1,559 \text{ humus} \quad (r^2 = 0,94)$$

Multiregresijske jednadžbe za izračun koncentracija rezidualne četvrte frakcije:

$$\text{Fe (mg/kg)} = 0,957 \text{ Fe}_{\text{Ukupni}} + 127,68 \text{ pH}_{\text{KCl}} - 697,43 \text{ humus} \quad (r^2 = 0,999)$$

$$\text{Mn (mg/kg)} = 0,075 \text{ Mn}_{\text{Ukupni}} + 11,99 \text{ pH}_{\text{KCl}} - 21,05 \text{ humus} \quad (r^2 = 0,30)$$

$$\text{Zn (mg/kg)} = 0,632 \text{ Zn}_{\text{Ukupni}} - 0,466 \text{ pH}_{\text{KCl}} + 0,793 \text{ humus} \quad (r^2 = 0,98)$$

$$\text{Cu (mg/kg)} = 0,785 \text{ Cu}_{\text{Ukupni}} - 0,165 \text{ pH}_{\text{KCl}} + 0,531 \text{ humus} \quad (r^2 = 0,97)$$

$$\text{Ni (mg/kg)} = 0,769 \text{ Ni}_{\text{Ukupni}} - 3,051 \text{ pH}_{\text{KCl}} - 1,04 \text{ humus} \quad (r^2 = 0,99).$$

Analizirano je 5 esencijalnih teških metala te se oni značajno razlikuju prema udjelima četiri analizirane frakcije u ukupnoj količini (koncentraciji) određenog teškog metala.

Bez obzira na pH reakciju tla, ukupnu koncentraciju Fe te humoznost, u svim analiziranim uzorcima frakcije Fe raspoređene su redoslijedom: (4-2-3-1), dakle rezidualna (4) frakcija > reducirajuća (2) frakcija > oksidirajuća (3) frakcija > izmjenjiva (1) frakcija.

Redoslijed frakcija kod Zn u većini uzoraka slijedi praviklo da je ekstrahirana koncentracija uvijek veća od koncentracije prethodne frakcije, te je raspored frakcija 4-3-2-1, dakle rezidualna (4) frakcija > oksidirajuća (3) frakcija > reducirajuća (2) frakcija > izmjenjiva (1) frakcija. Kod Zn su utvrđena odstupanja od ovog pravila kod 2., 6., 8., i 16. uzorka.

Kod Mn frakcije su raspoređene sljedećim redoslijedom 2-4-1-3, reducirajuća (2) frakcija > rezidualna (4) > izmjenjiva (1) frakcija > oksidirajuća (3) frakcija, ali su utvrđena odstupanja kod nekoliko uzoraka. Kada govorimo o Cu on ima najčešći odnos frakcija 4-2-3-1, dok je kod Ni redoslijed 4-3-2-1 kao i kod Zn.

Odnose frakcija pojedinih elemenata u ovom istraživanju možemo prikazati:

Fe	4	-	2	-	3	-	1
Mn	2	-	4	-	1	-	3
Zn	4	-	3	-	2	-	1
Cu	4	-	2	-	3	-	1
Ni	4	-	3	-	2	-	1

6. Zaključak

Analizama tla trostupanjskom ekstrakcijom i jednostrukom ekstrakcijom zlatotopkom utvrđen je najveći ukupni sadržaj Fe, zatim slijedi Mn, Zn, Ni te Cu koji je imao najnižu koncentraciju.

Odnosi ekstrahiranih količina prve frakcije esencijalnih teških metala, koja predstavlja biljci raspoložive oblike jer uključuje metale iz otopine tla te izmjenjive oblike, značajno se razlikuju u odnosu na ukupno ekstrahirane količine. Prema ekstrahiranim koncentracijama prve frakcije na prvom je mjestu Mn, na drugom mjestu je Fe, a slijede Ni, Zn i Cu na zadnjem mjestu.

U drugoj, reducirajućoj frakciji redoslijed je također drugačiji u odnosu na ukupne količine. Sada je Fe na prvom, a Mn na drugom mjestu, zatim slijedi Zn, pa Ni i Cu opet na zadnjem mjestu kao i u prvoj i drugoj frakciji.

Slijed treće ili oksidirajuće frakcije te četvrte ili rezidualne frakcije u jednakom je nizu kao i ukupne koncentracije, dakle Fe – Mn – Zn – Ni – Cu.

Možemo zaključiti kako se udio ispitivanih esencijalnih teških metala mijenja po frakcijama.

U analiziranim poljoprivrednim površinama (Sarajevo, Banja Luka, Novi Sad, Mostar, Osijek) od 16 uzoraka samo je u jednom uzorku utvrđena koncentracija nikla iznad maksimalno dopuštenih koncentracija, a sve su ostale vrijednosti nikla te sve koncentracije cinka i bakra bile manje od maksimalno dopuštenih koncentracija.

Koncentracije željeza ekstrahirane EDTA otopinom značajno ovise o kiselosti tla jer je u kiselijem tlu ekstrahirano više željeza nego u alkalnom tlu, slično je najviše raspoloživog cinka u kiselom, a najmanje u alkalnom tlu, dok kiselost tla nije značajno utjecala na koncentracije nikla ekstrahirane EDTA otopinom.

Istraživanja su potvrdila da se koncentracija svake pojedine frakcije analiziranih esencijalnih teških metala može proračunati multiregresijskim jednadžbama pomoću ukupnih koncentracija određenog teškog metala u tlu, te pH reakcije i sadržaja humusa u tlu.

7. Literatura

1. Blume, H.-P., Brümmer, G.W., Horn, R., Kandeler, E., Kögel-Knabner, I., Kretschmar, R., Schad, P., Stahr, K., Wilke, B.-M., (2016.): Scheffer/Schachtschabel Soil Science.
2. Egner, H., H. Riehm, W.R. Domingo (1960.): Untersuchungen über die chemische Bodenanalyse als Grundlage für die Beurteilung des Nährstoffzustandes der Boden II. Chemische Extraktionsmethoden zu Phosphor- und Kaliumbestimmung. K. Lantbr. Hogsk. Annlr. W.R. 26: 199-215
3. Guo, G.L., Zhou, Q.X., Koval, P.V., Belogolova, G.A. (2006.): Speciation distribution of Cd, Pb, Cu, and Zn in contaminated Phaeozem in north-east China using single and sequential extraction procedures. Australian Journal of Soil Research 136-159
4. International Organization for Standardization (1995.a): Soil quality – Determination of carbonate content – Volumetric method. ISO 10693:1995.
5. International Organization for Standardization (1995.b): Soil quality – Extraxtion of trace elements soluble in aqua regia. ISO 11466:1995
6. International Organization for Standardization (1998.): Soil quality – Determination of organic carbon by sulfochromic oxidation. 14235:1998.
7. Ivezić, V., Lončarić, Z., Engler, M., Kerovac, D., Singh, B.R. (2013.): Comparison of different extraction methods representing available and total concentrations of Cd, Cu, Fe, Mn and Zn in soil. Orginal scientific paper, ISSN 1330 – 7142. 53 – 58.
8. Karalić, K., Popović, B., Ivezić, V., (2015.): Kalcizacija tala u pograničnome području. Učinci kalcizacije, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
9. Lončarić, Z., Ivezić, V. (2015.): Značaj i porijeklo teških metala u tlima. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
10. Lončarić, Z., Ivezić, V., (2014.): Značaj i porijeklo teških metala u tlu. Plodnost i opterećenost tala u pograničnome području. Poljoprivredni faklutet, Osijek.
11. Lončarić, Z., Kadar, I. (2013.): Elementi u tragovima i teški metali u antroposferi. Interna skripta. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
12. Lončarić, Z., Kádár, I., Jurković, Z., Kovačević, V., Popović, B., Karalić, K. (2012.): Teški metali od polja do stola. Zbornik radova. 47th Croatian and 7th International Symposium on Agriculture. Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu. Opatija, 14-23.

13. Lončarić, Z., Karalić, K. (2015.): Mineralna gnojiva i gnojidba ratarskih usjeva. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
14. Lončarić, Z., Karalić, K., Popović, B., Rastija, D., Vukobratović, M. (2008): Total and plant available micronutrients in acidic and calcareous soils in Croatia. *Cereal Research Communication* 36 Suppl.
15. Menzies, N.W., M.J. Donn and P.M. Kopittke, (2007.): Evaluation of extractants for estimation of the phytoavailable trace metals in soils. *Environ Pollut.*, 145: 121-130
16. Pandurić, N., Lončarić, Z., Popović, B., Karalić, K., Ragalyi, P., Csatho, P., Engler, M., Rastija, D., (2009.): Comparison of AL and AA-EDTA soil-P tests, Research Institute for Soil Science and Agricultural Chemistry of the Hungarian Academy of Sciences, Budapest, Herman Otto ut 15, Hungary.
17. Ministarstvo poljoprivrede ribarstva i ruralnog razvoja (2014.): Pravilnik o zaštiti poljoprivrednog zemljišta od onečišćenja, NN 9/14 (Narodne novine, br 9/14.).
18. Pueyo, M., Mateu, J., Rigol, A., Vidal, M., López-Sánchez, J.F., Rauret, G. (2008.): Use of the modified BCR three-step sequential extraction procedure for the study of trace element dynamics in contaminated soils. *Environmental Pollution*, 152: 330-341.
19. Rauret, G., Lopez-Sanchez, J. F., Lück, D., Yli-Halla, M., Muntau, H., Quevauviller, Ph. (2001.): The certification of the extractable contents (mass fractions) of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in freshwater sediment following a sequential extraction procedure BCR-701. EUR 19775 EN. European Commission. Community Research. Belgium.
20. Škorić, A. (1992.): Priručnik za pedološka istraživanja. Sveučilište u Zagrebu, Fakultet poljoprivrednih znanosti – Zagreb, Zagreb.
21. Tandon, S. K. (1984.): Essential metal co-ordination in biochemistry. *Industrial Toxicology Research Centre, Lucknow, India*. 36, 307 – 323.
22. Tokalioglu, S., Kartal, S., Birol, G. (2001.): Application of a Three – Stage Sequential Extraction Procedure for the Determination of Extractable Metal Contents in Highway Soils. Erciyes University, Faculty of Arts and Science, Department of Chemistry, TR – 38039, Kayseri – Turkey.
23. Trierweiler JF, Lindsay WL (1969.): EDTA ammonium carbonate soil test for zinc. *Soil Sci Soc Am Proc* 33: 49-53
24. Ure, A.M., Quevauviller, Ph., Muntau, H., Griepink, B. (1993.): Speciation of heavy metals in soils and sediments. An account of the improvement and harmonization of extraction techniques undertaken under the auspices of the BCR of the Commission of

the European Communities. International Journal of Environmental Analytical Chemistry, 51: 135-151.

25. Vukadinović, V., Bertić, B. (1989.): Praktikum iz ishrane bilja i agrokemije. Poljoprivredni fakultet u Osijeku. Osijek.
26. Vukadinović, V., Lončarić, Z. (1998.): Ishrana bilja. Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
27. Vukadinović, V., Vukadinović, V. (2011.): Ishrana bilja, Poljoprivredni fakultet u Osijeku, Osijek.
28. Žemberyova, M., Bartekova, J., Hagarova, I. (2006.): The utilization of modified BCR three-step sequential extraction procedure for the fractionation of Cd, Cr, Cu, Ni, Pb and Zn in soil reference materials of different origins. Talanta, 70: 973-978.

8. Sažetak

Analizirano je 16 uzoraka tla iz područja Sarajeva, Banja Luke, Novog Sada, Mostara i Osijeka. Provedene su osnovne agrokemijske analize tla, jednostupanjska ekstrakcija raspoloživih esencijalnih teških metala EDTA otopinom, jednostupanjska ekstrakcija ukupnih esencijalnih teških metala zlatotopkom, te trostupanjska ekstrakcija kojom su utvrđene 4 frakcije esencijalnih teških metala: izmjenjiva, reducirajuća, oksidirajuća i rezidualna frakcija.

Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj svojstava tla na koncentraciju ukupnih, raspoloživih te težih topivih frakcija esencijalnih teških metala u tlu, usporediti iste s rezultatima jednostruke ekstrakcije, te procijeniti pogodnost trostupanjske ekstrakcije za analizu poljoprivrednih tala u poljoprivredi. U istraživanju je korištena modificirana trostupanjska BCR metoda koja se u EU uvodi kao standardna metoda za istraživanje frakcija teških metala u tlima.

Analizama tla trostupanjskom ekstrakcijom i jednostrukom ekstrakcijom zlatotopkom utvrđen je najveći ukupni sadržaj Fe, zatim slijedi Mn, Zn, Ni te Cu koji je imao najnižu koncentraciju.

Odnosi ekstrahiranih količina prve frakcije esencijalnih teških metala značajno se razlikuju u odnosu na ukupno ekstrahirane količine jer je na prvom mjestu Mn, na drugom mjestu je Fe, a slijede Ni, Zn i Cu na zadnjem mjestu. U drugoj, reducirajućoj frakciji redoslijed je također drugačiji, sada je Fe na prvom, a Mn na drugom mjestu, pa slijede Zn, Ni i Cu. Slijed treće ili oksidirajuće frakcije te četvrte ili rezidualne frakcije u jednakom je nizu kao i ukupne koncentracije, dakle Fe – Mn – Zn – Ni – Cu. Možemo zaključiti kako se udio ispitivanih esencijalnih teških metala mijenja po frakcijama.

U analiziranim poljoprivrednim površinama od 16 uzoraka samo je u jednom uzorku utvrđena koncentracija nikla iznad maksimalno dopuštenih koncentracija, a sve su ostale vrijednosti nikla te sve koncentracije cinka i bakra bile manje od maksimalno dopuštenih koncentracija.

Istraživanja su potvrdila da se koncentracija svake pojedine frakcije analiziranih esencijalnih teških metala može proračunati multiregresijskim jednadžbama pomoću ukupnih koncentracija određenog teškog metala u tlu, te pH reakcije i sadržaja humusa u tlu.

9. Summaray

Analyzed 16 soil samples from the area of Sarajevo, Banja Luka, Novi Sad, Mostar and Osijek. Implemented basic agrochemical soil analysis, single-extraction of available essential heavy metals EDTA solution, single-stage extraction of total essential heavy metals aqua regia, and the three-stage extraction laying down 4 fractions of essential heavy metals: interchangeable, reducing, oxidizing and a residual fraction.

The aim of this study was to determine the effect of soil properties on the concentration of total, available and weight of soluble fraction of essential heavy metals in the soil, comparable same to the results of single extraction, then assess the convenience of triple-phase extraction for analysis of agricultural soils in organic farming. In the study was used a modified three-stage BCR method in the EU introduced as a standard method for researching fraction of heavy metals in soils.

Analyses of the soil three-stage extraction and a single extraction with aqua regia was determined the highest total content of Fe, followed by Mn, Zn, Ni and Cu which had the lowest concentration.

The relations of the extracted amount of the first fraction of essential heavy metals differ significantly in relation to the total amount extracted as the first Mn, second Fe, followed by Ni, Zn and Cu in last place. In the second, the reducing fraction of the order is also different, now is the first Fe and Mn in second place, then following Zn, Ni and Cu. The sequence of the third or oxidizing fractions and fourth or residual fractions in the same row as the total concentration, ie Fe - Mn - Zn - Ni - Cu. We can conclude that the proportion of tested essential heavy metals changed by fractions.

In the analyzed agricultural areas of the 16 samples, only one sample showed concentrations of nickel above the maximum residue levels, and all other values of nickel and all concentrations of zinc and copper were less than the maximum allowed concentration.

Studies have confirmed that the concentration of each fraction analyzed essential heavy metals can calculate multi regression equations using the total concentrations of heavy metals in the soil and the pH of the reaction and the amount of humus in the soil.

10. Popis tablica

Tablica 1: Osnovna agrokemijska svojstva analiziranih tala

Tablica 2: Raspoložive frakcije Fe, Zn, Ni ekstrahiranih s EDTA

Tablica 3: Prosječne koncentracije prve frakcije u mg/kg

Tablica 4. Prosječne koncentracije druge frakcije u mg/kg

Tablica 5. Prosječne koncentracije treće frakcije u mg/kg

Tablica 6. Prosječne koncentracije četvrte frakcije u mg/kg

Tablica 7. Suma frakcija Fe (frakcija 1-4) i jednostruka ekstrakcija zlatotopkom

Tablica 8. Suma frakcija Mn (frakcija 1-4) i jednostruka ekstrakcija zlatotopkom

Tablica 9. Suma frakcija Zn (frakcija 1-4) i jednostruka ekstrakcija zlatotopkom

Tablica 10. Suma frakcija Cu (frakcija 1-4) i jednostruka ekstrakcija zlatotopkom

Tablica 11. Suma frakcija Ni (frakcija 1-4) i jednostruka ekstrakcija zlatotopkom

11. Popis grafikona

Grafikon 1. Sadržaj humusa u tlu

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište Josipa Jurja Strossmayera

Diplomski rad

Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Sveučilišni diplomski studij, smjer Ekološka poljoprivreda

**Usporedba trostupanske i jednostruke ekstrakcije esencijalnih teških metala u
poljoprivrednim tlima
Magdalena Rajković**

Sažetak:

Analizirano je 16 uzoraka tla iz područja Sarajeva, Banja Luke, Novog Sada, Mostara i Osijeka. Provedene su osnovne agrokemijske analize tla, jednostupanjska ekstrakcija raspoloživih esencijalnih teških metala EDTA otopinom, jednostupanjska ekstrakcija ukupnih esencijalnih teških metala zlatotopkom, te trostupanjska ekstrakcija kojom su utvrđene 4 frakcije esencijalnih teških metala: izmjenjiva, reducirajuća, oksidirajuća i rezidualna frakcija. Cilj istraživanja bio je utvrditi utjecaj svojstava tla na koncentraciju ukupnih, raspoloživih te teže topivih frakcija esencijalnih teških metala u tlu, usporediti iste s rezultatima jednostruke ekstrakcije, te procijeniti pogodnost trostupanjske ekstrakcije za analizu poljoprivrednih tala u poljoprivredi. U istraživanju je korištena modificirana trostupanjska BCR metoda koja se u EU uvodi kao standardna metoda za istraživanje frakcija teških metala u tlima. Analizama tla trostupanjskom ekstrakcijom i jednostrukom ekstrakcijom zlatotopkom utvrđen je najveći ukupni sadržaj Fe, zatim slijedi Mn, Zn, Ni te Cu koji je imao najnižu koncentraciju. Odnosi ekstrahiranih količina prve frakcije esencijalnih teških metala značajno se razlikuju u odnosu na ukupno ekstrahirane količine jer je na prvom mjestu Mn, na drugom mjestu je Fe, a slijede Ni, Zn i Cu na zadnjem mjestu. U drugoj, reducirajućoj frakciji redoslijed je također drugačiji, sada je Fe na prvom, a Mn na drugom mjestu, pa slijede Zn, Ni i Cu. Slijed treće ili oksidirajuće frakcije te četvrte ili rezidualne frakcije u jednakom je nizu kao i ukupne koncentracije, dakle Fe – Mn – Zn – Ni – Cu. Možemo zaključiti kako se udio ispitivanih esencijalnih teških metala mijenja po frakcijama. U analiziranim poljoprivrednim površinama od 16 uzoraka samo je u jednom uzorku utvrđena koncentracija nikla iznad maksimalno dopuštenih koncentracija, a sve su ostale vrijednosti nikla te sve koncentracije cinka i bakra bile manje od maksimalno dopuštenih koncentracija. Istraživanja su potvrdila da se koncentracija svake pojedine frakcije analiziranih esencijalnih teških metala može proračunati multiregresijskim jednadžbama pomoću ukupnih koncentracija određenog teškog metala u tlu, te pH reakcije i sadržaja humusa u tlu.

Rad je izrađen pri: Poljoprivredni fakultet u Osijeku

Mentor: prof. dr. sc. Zdenko Lončarić

Broj stranica: 38

Broj grafikona i slika: 1

Broj tablica: 11

Broj literaturnih navoda: 28

Broj priloga: 0

Jezik izvornika: hrvatski

Ključne riječi: teški metali, frakcije, mikroelementi

Datum obrane:

Stručno povjerenstvo za obranu:

1. doc. dr. sc. Vladimir Ivezić, predsjednik
2. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, mentor
3. doc.dr. sc. Brigita popović, član
4. doc. dr. sc. Krunoslav Karalić, član

Rad je pohranjen u: Knjižnica Poljoprivrednog fakulteta u Osijeku, Sveučilištu u Osijeku, Kralja Petra Svačića 1d

BASIC DOCUMENTATION CARD

Josip Juraj Strossmayer University of Osijek
Faculty of Agriculture in Osijek
University Graduate Studies, course Ecological agriculture

Graduate thesis

Comparison three-stage and single extraction of essential heavy metals in agricultural soils

Magdalena Rajković

Abstract:

Analyzed 16 soil samples from the area of Sarajevo, Banja Luka, Novi Sad, Mostar and Osijek. Implemented basic agrochemical soil analysis, single-extraction of available essential heavy metals EDTA solution, single-stage extraction of total essential heavy metals aqua regia, and the three-stage extraction laying down 4 fractions of essential heavy metals: interchangeable, reducing, oxidizing and a residual fraction. The aim of this study was to determine the effect of soil properties on the concentration of total, available and weight of soluble fraction of essential heavy metals in the soil, comparable same to the results of single extraction, then assess the convenience of triple-phase extraction for analysis of agricultural soils in organic farming. In the study was used a modified three-stage BCR method in the EU introduced as a standard method for researching fraction of heavy metals in soils. Analyses of the soil three-stage extraction and a single extraction with aqua regia was determined the highest total content of Fe, followed by Mn, Zn, Ni and Cu which had the lowest concentration. The relations of the extracted amount of the first fraction of essential heavy metals differ significantly in relation to the total amount extracted as the first Mn, second Fe, followed by Ni, Zn and Cu in last place. In the second, the reducing fraction of the order is also different, now is the first Fe and Mn in second place, then following Zn, Ni and Cu. The sequence of the third or oxidizing fractions and fourth or residual fractions in the same row as the total concentration, ie Fe - Mn - Zn - Ni - Cu. We can conclude that the proportion of tested essential heavy metals changed by fractions. In the analyzed agricultural areas of the 16 samples, only one sample showed concentrations of nickel above the maximum residue levels, and all other values of nickel and all concentrations of zinc and copper were less than the maximum allowed concentration. Studies have confirmed that the concentration of each fraction analyzed essential heavy metals can calculate multi regression equations using the total concentrations of heavy metals in the soil and the pH of the reaction and the amount of humus in the soil.

Thesis performed at: Faculty of Agriculture in Osijek

Mentor: prof. dr. sc. Zdenko Lončarić

Number of pages: 38

Number of figures: 1

Number of tables: 11

Number of references: 28

Number of appendices: 0

Original in: Croatian

Key words: heavy metals, fractionation, microelements

Thesis defended on date:

Reviewers:

1. doc. dr. sc. Vladimir Ivezić, chairman
2. prof. dr. sc. Zdenko Lončarić, mentor
3. doc.dr. sc. Brigita popović, member
4. doc. dr. sc. Krunoslav Karalić, member

Thesis deposited at: Library, Faculty of Agriculture in Osijek, Josip Juraj Strossmayer University of Osijek, Kralja Petra Svačića 1d